



# PRESENCIA DE *L. MONOCYTOGENES* EN ESPECIAS

A. Benezet, J. M. de la Osa, E. Pedregal, M. Botas, N. Olmo y F. Pérez Flórez\*

## RESUMEN

Teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* es una bacteria extraordinariamente ubicua, frecuente además en heces del hombre y animales; todo ello facilita su presencia en alimentos manufacturados de origen animal, es por lo que este trabajo ha pretendido comprobar la posible contaminación de las especias con *L. monocytogenes* puesto que estos productos, son un componente habitual de los alimentos.

## SUMMARY

*L. monocytogenes* is a very ubiquitous bacteria frequently in human and animal dregs, it makes easy the presence of this bacteria in manufactured food of animal source. The aim of the present paper has been to detect *L. monocytogenes* in spices, because these products are an usual ingredients in the foodstuffs.

La listeriosis se presenta en el hombre como una enfermedad poco frecuente pero de graves consecuencias. El agente causal de las listeriosis humanas y animales es, sobre todo, la especie *Listeria monocytogenes* con mayor prevalencia de los serovares hemolíticos, con predominio del serovar 4b.

Los casos de listeriosis humana recogidos en estadísticas oficiales españolas, según datos hospitalarios, no pasan de treinta por año, aunque no siempre se conoce si existía algún alimento responsable del proceso.

*L. monocytogenes* es una bacteria extraordinariamente ubicua, por lo que se puede encontrar en el suelo, en el agua, en los vegetales y en las heces del hombre y los animales que se comportan entonces como portadores gastrointestinales; todo ello facilita la presencia de la bacteria en los alimentos de origen animal, productos lácteos y cárnicos principalmente.

La presencia de *L. monocytogenes* en materias primas de origen cárnico está demostrada en numerosos estudios, uno de los cuales reproducimos a continuación.

En este trabajo se ha pretendido comprobar la incidencia de *L. monocytogenes* en las especias, como ingredientes

## Presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos

Productos	Núm. de muestras + (%)	Núm. de muestras
Carne picada de cerdo	30	24 (80)
Salchichas «untables»	30	17 (59)
Salchichas deshidratadas y frescas	157	20 (12,7)
Carne picada de ternera	67	19 (28)
Ternera fresca	658	41 (6,2)
Salami	243	4 (0,2)
Paté	73	37 (50,7)
Salchichones	96	5 (5,5)
Jamón curado	19	0 (0)

Datos publicados por Farber y Peterkin.

que entran en la elaboración de diversos productos cárnicos, utilizando dos tipos de técnicas microbiológicas, que se detallan en el apartado siguiente.

## MATERIAL Y METODOS

Se emplearon dos protocolos:

### Protocolo 1

1. Enriquecimiento previo de 25 g de muestra en 225 ml caldo Fraser durante 24 h a 30 °C. El suplemento empleado para el caldo Fraser por litro es de:

- Citrato de amonio y hierro (111): 500 mg.
- Acriflavina: 25 mg.
- Acido nalidixico: 20 mg.

2. Transferrir 1 ml del caldo de enriquecimiento a 10 ml de caldo Fraser, como segundo enriquecimiento, incubarlo durante 24 h a 30 °C.

3. Identificación presuntiva por procedimiento automatizado de inmuoen ensayo según el sistema Vidas.

4. Aislamiento de presuntos positivos en superficie sobre agar Palcam incubando a 37 °C durante 48 h.

5. Resiembra de colonias características en TSA con extracto de levadura al 0,6%, obteniendo los cultivos puros tras la incubación a 37 °C durante 24 h.

6. Confirmación bioquímica de la *Listeria monocytogenes* en Galerías API Listeria, con los test correspondientes a:

- Diferenciación de *Listeria innocua* / *Listeria monocytogenes*

\* Laboratorios ANVISA (Arganda del Rey, Madrid)

mediante test DIM (Arlamida-sa).

- Hidrólisis de esculina
- $\alpha$ -monosidasas.
- Acidificación:
  - D-arabinosa
  - D-xilosa
  - Ramnosa
  - $\alpha$ -meti-D-glucósido
  - Ribosa
  - Glucosa-1-fosfato
  - D-tagatosa

### Protocolo 2

1. Enriquecimiento de 25 g de muestra en caldo Fraser 1/2, con la mitad de concentración de sustancias selectivas (acriavina: 15,5 mg/l y ácido nalidíxico: 10 mg/l). Incubación a 30 °C durante 24 h.

2. Inoculación de 10 ml de caldo Fraser con 0,1 ml del primer enriquecimiento. Incubación a 30 °C durante 24 h.

3. El resto de las etapas son idénticas a las que figuran en el protocolo 1.

### MUESTREO

El muestreo realizado, según nuestros planes de inspección interna y

autocontrol de materias primas establecidos, corresponden a un periodo de tiempo que abarca desde noviembre de 1999 hasta agosto de 2000.

Tabla de especias analizadas	Número de muestras
Pimentón picante Vera	7
Pimentón agrdulce Vera	9
Pimentón dulce Vera	17
Pimentón dulce Murcia	10
Total muestras de pimentón	43
Alcaravea molida	1
Anís molido	2
Apio molido <i>celery</i>	3
Canela molida	1
Cardamomo molido	1
Cayena molida	3
Cebolla molida <i>onion</i>	3
Cilantro molido	1
Clavo molido	1
Cominos molidos	4
Cúrcuma molida	2
Laurel molido	1
Nuez moscada molida	5
Orégano molido	2
Perejil molido <i>parsley</i>	1
Pimienta blanca en grano	2
Pimienta blanca molida	5
Pimienta negra en grano	1
Pimienta negra molida	9
Tomillo molido <i>thyme</i>	1
Total muestras de otras especias	49
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>92</b>

Se han analizado un total de 92 muestras de especias para tratar de comprobar la presencia o ausencia de *L. monocytogenes* en 25 g de producto

Del total de muestras analizadas, 43 pertenecen a pimentones de distintas variedades y 49 a otras especias, según se detalla en los gráficos por sectores y en la tabla correspondientes.

El total de muestras analizadas se han sometido al protocolo 1 del apartado de Metodología, empleando caldo Fraser en los enriquecimientos selectivos. De las 92 muestras del trabajo, 40 se han analizado por duplicado; utilizando, además, el protocolo 2 que añade en el primer enriquecimiento los agentes selectivos a mitad de concentración.

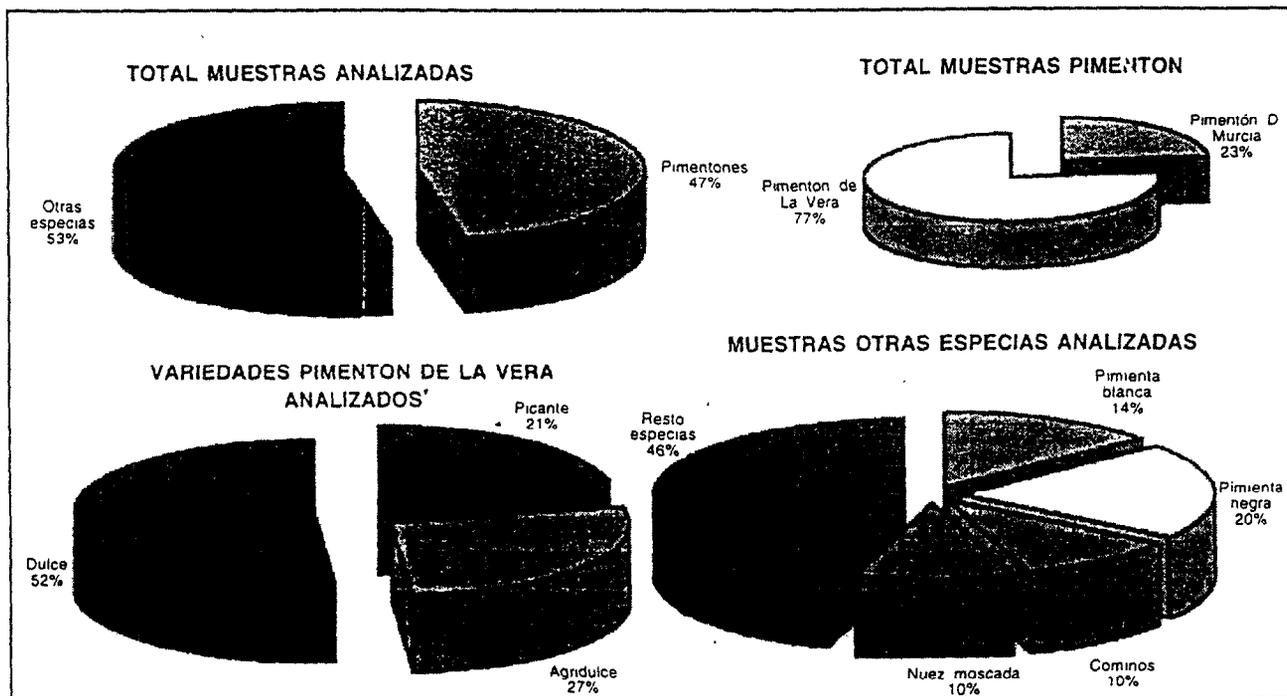
Las muestras que se analizaron simultáneamente por los dos protocolos, fueron las siguientes:

15 pimentones, 6 cominos molidos, 9 pimienta negra molida, 4 pimienta blanca molida, 2 nuez moscada, 2 orégano, 2 apio.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En ninguna de las muestras analizadas ha sido detectada la presencia de *L. monocytogenes*.

Del total de pruebas realizadas en el sistema, Vidas de inmunoensayo auto-



matizado, sólo se han obtenido dos fluorescencias débiles que correspondieron a resultados falsos-positivos. Tras los correspondientes aislamientos en medio sólido, en una de las muestras no hubo crecimiento en las placas de Palcam; y en la otra, el crecimiento fue escaso y las colonias no presentaban las características de *L. monocytogenes* (colonias cóncavas, tonalidad verde-grisácea y esculina positivas).

Por los resultados obtenidos, se podría afirmar que las especias, como ingredientes de los productos cárnicos no son un punto crítico de control importante en cuanto a la disminución del riesgo que supone la presencia de *L. monocytogenes* en ellos.

Es conocida la presencia en algunas especias de sustancias inhibitoras del crecimiento bacteriano. Estos agentes bacteriostáticos pueden ser de origen

natural, caso de los aceites esenciales, y pueden también formarse durante los procesos tecnológicos de fabricación de determinadas especias, como en el proceso de ahumado en ciertas variedades de pimentones.

Considerando el punto anterior, cabría la posibilidad de que en algunas especias pudiesen existir sustancias inhibitoras del crecimiento de *L. monocytogenes* que enmascarasen la presencia de una contaminación, incluso reciente, por esta bacteria. Por ello, para un mejor conocimiento de la incidencia y distribución de *L. monocytogenes* en estos productos, podrían ser aconsejables ciertas modificaciones en los protocolos de ensayo en cuanto a medios de enriquecimiento, suplementos selectivos utilizados o, incluso, diluyendo más cantidad de muestra para su ensayo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Bahk, J y Marth E. *Listeriosis and Listeria monocytogenes*. Foodborne Disease Acad Press, 1990
- 2 Benezet, A. y col. Investigación de *monocytogenes* en productos cárnicos mentaria, nov. 93
- 3 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volumen 2 Ed. 1986
- 4 European Commission Opinion of Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on *Listeria monocytogenes*, 23 sep 1999
- 5 Farber and Peterkin: *Microb* 55, pág 408, 19
- 6 Giovannacci, L. y col.: *Listeria monocytogenes* et découpes de porc Viandes Pt Carnés. Nov.-Dic., 1999
7. Messi, P.: Presenza di *Listeria* in matrici mentan. *Industria Alimentari*, febrero 20
- 8 «Sanidad no encuentra en España productos contaminados con *Listeria*, Francia registra un nuevo caso de contagio», referencia de prensa, febrero 2000.
9. Tello, O. - Vigilancia epidemiológica de *Listeria*. Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III Octubre 19



### (Servicio de Información y Documentación Alimentaria)

Con la colaboración técnica del personal de este servicio podrá usted tener respuesta cualquier consulta o problema que se le plantee en los aspectos científicos, técnicos, sanitarios, nutritivos, jurídicos, comerciales, de formación e información a todos los niveles, bibliográficos, analíticos y legislativos o normativos.

Dirigirse a:

Calle Sandoval, 12, 1.º J. 28010 Madrid

Teléfonos: (91) 446 96 01 - (91) 446 96 59 - (91) 446 98 58

Fax: (91) 593 37 44 - e.mail: eypasa@retemail.es ó eypasa1@terra.es

(SOLICITE LA LEGISLACION ESPECIFICA QUE NECESITE, TANTO DE ESPAÑA  
COMO DE LA UNION EUROPEA)

(Puesta al día al 29 de febrero del 2001)

Después de su petición se emite presupuesto y recibida la conformidad se remite factura para confirmación de abono y envío del material.